

Dipl. inž. Đorđe Zonji, Beograd

NEKA RAZMATRANJA U VEZI REDUKTAZNE PROBE

Reduktazna proba predstavlja jednostavno i dobro merilo za orijentacionu ocenu higijenskog kvaliteta mleka, s obzirom da se ona izvodi jednostavno i ne iziskuje skupu opremu.

Redukcija metilenskog plavog, tj. prelaz u bezbojnu leuko bazu, zasniva se na činjenici da aktivni aerobi i fakultativno anaerobni mikroorganizmi koriste slobodan ili slabo vezani kiseonik u mleku, prouzrokujući pri tome promenu u oksido-redukcionom potencijalu mleka.

Prema Sommeru (1), provetreno sveže mleko ima oksido-redukциони potencijal $E_h = +0,30$ do $+0,40$ volti. Trošenjem ili vezivanjem kiseonika ovaj potencijal opada, pa kada dostigne vrednost od $E_h = +0,05$ do $0,15$ volti, dolazi do prelaza metilenskog plavog u bezbojnu leuko bazu.

Pored mikroorganizama na redukciju utiču i drugi faktori koji su takođe vezani za mleko. Treba spomenuti leukocite, encimske sisteme u mleku, sastojke mleka s reducirajućim svojstvima, itd.

Kao što je navedeno, redukcija se bazira na trošenje kiseonika od strane aktivnih mikroorganizama, pa je vreme redukcije bilo dovedeno u vezu s brojem mikroorganizama u mleku. Međutim, mnogobrojni faktori komplikuju pojednostavljenu predstavu o neposrednoj vezi vremena redukcije s brojem mikroorganizama. Treba imati u vidu da vreme redukcije zavisi i od vrste mikroorganizama.

Stević (2) navodi da okruglaste bakterije mlečne kiseline brže vrše obezbojavanje od štapićastih, a da bakterije *Escherichia-Aerobacter* grupe imaju najjaču sposobnost redukcije. Pored vrste, od uticaja su i starost mikroorganizama, njihova aktivnost i intenzitet potrošnje kiseonika, itd.

U literaturi se vrlo često navodi relacija Barthel-Orla Jensen o povezanosti vremena redukcije s verovatnim brojem mikroorganizama u mleku, kao što se vidi iz tabele 1.

Tabela 1

Vreme redukcije	Broj mikroorganizama
do 15 minuta	preko 20 miliona
od 15 minuta do 2 sata	4 do 20 miliona
od 2 do 5½ sati	0,5 do 4 miliona
preko 5½ sata	do 0,5 miliona

U cilju provere u kojoj meri relacija Barthel-Jensen odgovara mleku s otkupnog područja beogradske mlekare, izvršena su ispitivanja na 211 uzoraka mleka na redukciono vreme i ukupan broj mikroorganizama. Statistička obrada dala je sledeće podatke:

Tabela 2

Vreme redukcije	Broj mikroorganizama
do 15 minuta	189 miliona do 25 milijardi
od 15 minuta do 2 sata	1,5 miliona do 680 miliona
od 2 do 5½ sati	0,3 do 24 miliona
preko 5½ sati	0,2 do 10 miliona.

Očigledna su velika odstupanja prema tabeli 1, a uz to su široke varijacije i unutar istog vremena redukcije. **Ovi podaci potvrđuju gledišta da se vreme redukcije zaista ne može smatrati pouzdanim i direktnim merilom broja mikroorganizama, već pre može poslužiti samo kao orijentaciono merilo biohemijske aktivnosti mikroorganizama u mleku.**

Naravno, ova će aktivnost biti utoliko veća, ukoliko ima više mikroorganizama u mleku — pa shodno tome rezultiraće i kraće vreme redukcije.

Za našu praksu važna je ova činjenica, s obzirom na postojeće propise o kvalitetu mleka, koji s jedne strane limitiraju maksimalni broj mikroorganizama, a s druge minimalno reduktazno vreme. Iz iznetih podataka, se vidi, da je sasvim malo verovatna mogućnost da se na osnovu reduktaznog vremena donosi sud o broju bakterija u mleku.

Međutim, samo reduktazno vreme ne daje punu sliku o biohemijskoj aktivnosti mikroorganizama u mleku, odnosno o transformacijama do kojih dolazi pod uticajem aktivnih mikroorganizama.

Da bi dobili uvid u pravac biohemijskih aktivnosti, u nizu oglada određivali smo pored reduktaznog vremena i promenu pH mleka za vreme redukcije. Ovaj pokazatelj je određivan (pH-metrom) odmah nakon dodatka metilenskog plavog i po završetku redukcije. Rezultati su pokazali da je u 75% slučajeva došlo do sniženja pH za 0,05 do 0,67 jedinica, u 19% slučajeva pH je bio povišen za 0,05 do 0,11 jedinica, dok u 6% slučajeva nije došlo do promena pH.

Sniženje pH je rezultiralo verovatno zbog izrazitijeg delovanja mlečno-kiselinskih mikroorganizama, dok su kod povišenja pH verovatno imali prevagu truležni mikroorganizmi koji su alkalizirali mleko.

Smatramo da bi kombinacija određivanja reduktaznog vremena s određivanjem pH mogla dati mnogo potpuniju sliku o bakteriološkom ili higijenskom kvalitetu mleka, no jednostavno određivanje reduktaze.

Koncentracija upotrebljenog metilenskog plavog utiče na ishod reduktazne probe, na šta su već mnogi autori ukazivali. Na ovom pitanju radio je kod nas i Dorđević (3). U našoj praksi, zbog toga što nije propisana metodika izvođenja reduktazne probe, bilo je već rasprava između proizvođačkih i otkupnih organizacija za mleko. Smatramo, da bi bilo neophodno u što skorije vreme ovo pitanje propisom regulisati.

Pre svega, u prodaji se nalaze preparati odnosno boja — metilensko plavo raznog sastava (MP rodanid, MP hlorid), s promenljivim sadržajem boje. Pored toga, sadržaj vlage može biti vrlo promenljiv. Na primer, našli smo sadržaj od oko 11% vlage u metilenskom plavom. Prema Schönbergu (4) za izvođenje reduktazne probe u obzir dolazi metilensko plavo bez cinkhlorida, tj. metilensko plavo B extra i medicinale (DAB6, Ph. Btg III, Helv. IV, itd.). Ne odgovara metilensko plavo koje sadrži cinkhlorid, tj. preparati B, BB, BB extra i 2 B extra. (Merck, Kahlbaum).

U cilju standardizacije izvođenja reduktazne probe, u nekim zemljama propisano je koliko boje može doći na 1 ccm mleka. Na primer u USA 3,74 gama, u Švajcarskoj 2,84 gama, u Austriji 3,74 gama, a u Zap. Nemačkoj prema Roederu na 10 ccm mleka dodaje se 1 ccm rastvora, koji u 100 ccm sadrži 10 mg metilenskog plavog (DAB 6). (Napomena: 1 gama = 1 milionti deo grama).

Kod nas, neke mlekare koriste engleske tablete metilenskog plavog (firme BDH), neke tablete »Feinchemie«, K. H. Kalies, a neke opet metilensko plavo u prahu raznog porekla.

Kod upotrebe engleskih tableta BDH i prema uputstvu za izvođenje reduktazne probe, jednostavnim proračunom dobijamo da količina boja iznosi 2,37 gama na 1 ccm mleka. Kod upotrebe tablete »Feinchemie« količina boje iznosi 5 gama na 1 ccm mleka. Nije bolja situacija ni kada mlekare same pripremaju rastvor boje, pošto nije ujednačena metodika pripreme. Na primer, prema praktikumu Pejić—Đorđević (3) treba rastvoriti 1—2 grama metilenskog plavog u 20 ccm alkohola, pa 5 ccm ovog zasićenog rastvora pomešati sa 195 ccm destilisane vode. Od ovog rastvora dodaje se 1 ccm na 20 ccm mleka. Prema Klimmer-Schönbergu (4) dodaje se 0,5 ccm rastvora metilenskog plavog na 20 ccm mleka, itd. U cilju provere intenziteta plave boje pripremili smo 3 koncentracije boje: 0,1 g u 1000 ccm vode, 1 gram u 20 ccm alkohola, od toga 5 ccm na 195 ccm vode i 2 grama boje u 20 ccm alkohola, a od toga 5 ccm na 195 ccm vode. Nakon razblaženja s vodom u srazmeri 1 : 100, merenja na fotometru dala su sledeće vrednosti: 1. uzorak: 0,110, 2. uzorak: 0,117, 3. uzorak: 0,180.

Prema tome intenzitet odnosno količine boje bile su različite.

S druge strane, direktna merenja količine prisutne boje u 5 ccm zasićenog rastvora metilenskog plavog pokazala su da je bilo rastvoreno 0,0515 grama boje. Prema tome, pri izvođenju reduktazne probe prema uputstvu Klimmer-Schönberga, dolazi na 1 ccm mleka 6,5 gama boje, a pri dodavanju 1 ccm rastvora na 20 ccm mleka dolazi 13 gama boje.

Zeilinger (5) je našao da kod istog uzorka mleka osetnije razlike u vremenu redukcije nastaju tek onda, ako se koncentracija boje menja u srazmeri 2 : 1.

Do kakvih se rezultata dolazi kod ispitivanja istog uzorka mleka po 3 razne metode, koje se kod nas primenjuju, pokazuje sledeća tabela:

Tabela 3

Broj uzorka		
1	2	3
Vreme redukcije u minutima		
180	240	180
140	240	230
55	90	75
100	85	105
245	105	105
80	345	305
290	385	330
300	350	275
275	110	105

Iz prednjeg jasno proizlazi da bi bilo od interesa za naše mlekarstvo da se usvoji jedinstvena metodika rada i da bi pravilno bilo pri tome da se odredi količina boje koja može doći na 1 ccm mleka pri izvođenju reduktazne probe. Isto tako trebalo bi propisati koji preparati metilenskog plavog dolaze u obzir. Sadašnja neujednačenost metodike rada mora se što hitnije ukloniti.

Ako reduktazna proba treba da služi kao merilo higijenske ispravnosti mleka, onda je po našem mišljenju, van diskusije da se ona mora izvoditi na

mestu gde će se mleko obraditi odnosno preraditi, dakle u mlekari, jer u mlekari počinje u stvari finalizacija mleka.

Odsustvo hlađenja mleka na mestu proizvodnje ili u sabirnoj stanici može izvanredno uticati na skraćenje reduktaznog vremena, kao i obratno, pošto se hlađenjem smanjuje aktivnost mikroorganizama, a uz to se u hladnom mleku više rastvaraju gasovi, dakle i kiseonik, a količina kiseonika utiče na ishod reduktazne probe. Naša komparativna ispitivanja su jasno pokazala efekat hlađenja.

Temperatura mleka	Vrst uzorka		
	1	2	3
	vreme redukcije u minutima		
5° C	180	168	170
8° C	140	146	122
20° C	72	19	9
20° C	37	10	3

- Oznake: 1. vreme redukcije u sabirnoj stanici
 2. vreme redukcije nakon 2 sata transporta
 3. vreme redukcije nakon 4 sata transporta.

Bez obzira na higijensku ispravnost ispitanih uzoraka mleka, uticaj hlađenja je vrlo evidentan. **Poboljšanje higijenskog nivoa u proizvodnji mleka i efikasno hlađenje neposredno nakon muže su osnovni faktori koji obezbeđuju zadovoljavajuće reduktazno vreme.**

Sadašnji minimalni zahtev od 2 sata redukcije treba smatrati prelaznim, jer takvo mleko spada još uvek u kategoriju vrlo lošeg mleka — prema kriterijumu mnogih priznatih autoriteta.

Literatura

1. Sommer H. Hugo: Market milk, 1952.
2. Stević B: Tehnološka mikrobiologija stočnih proizvoda i ishrana stoke, Beograd, 1962.
3. Pejić O. — Đorđević J.: Mlekarski praktikum, Beograd, 1963.
4. Klimmer-Schönberg: Milchkunde und Milchhygiene, Hannover, 1951.
5. Zeilinger A.: Zur Reduktaseprobe, Haški Kongres, 1953.

Dipl. inž. Zvonimir Kovač, Zagreb
 Tehnološki fakultet

IONSKI IZMJENJIVAČI I NJIHOVA PRIMJENA U MLJEKARSTVU

Jedan od važnih uvjeta svake kvalitetne proizvodnje jest dovoljna količina kvalitetno odgovarajuće vode. (Vidi navod br. 1)

Mnoge grane industrije koje su se kvalitetno razvile zahvaljuju svoj razvitak odgovarajućoj kvaliteti vode.

Na početku proizvodnje industrija nije znala zašto joj neka voda odgovara za kvalitetnu proizvodnju, jer tehnološki procesi nisu bili stručno i naučno istraženi. Znalo se samo empirijski, da određena vrsta vode najbolje odgovara za neki tehnološki proces. Zbog toga su se podizale razne grane industrije uz kvalitetno odgovarajuću vodu. Lakše je i jeftinije podići tvornicu, dopremiti sirovine, gorivo i ambalažu do tvornice kao i izgraditi naselje, nego dopre-